

LYSOZYMURIE UND AUSSCHIEDUNG VON RETINOL-
BINDENDEM PROTEIN UNTER APROTININ

- Untersuchung an 21 Patienten -

RAINER KURZ

1986

*Duss
München*



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Abteilung Innere Medizin III
des Klinikums Großhadern
der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Wilmanns

LYSOZYMURIE UND AUSSCHIEDUNG VON RETINOL-BINDENDEM
PROTEIN UNTER APROTININ

- Untersuchung an 21 Patienten -

Inaugural - Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Rainer Kurz

aus

Lindau

Jahr

1985

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. N. Wilmanns

Mitberichterstatter:

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 15. 5. 1986

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
1. EINLEITUNG	
1.1. Lysozymstoffwechsel. Lysozymurie bei Nierenkrankheiten	1
1.2. Primäre und sekundäre Lysozymurie bei Leukämien	1
1.3. Ein Fall von CML mit sekundärer Lysozymurie bei antifibrinolytischer Behandlung	2
1.4. Ein Fall von Prostatakarzinom mit Lysozymurie bei antifibrinolytischer Behandlung	3
1.5. Retinol-bindendes Protein	4
1.6. Fragestellungen	4 a
2. MATERIAL UND METHODEN	
2.1. Patienten	6
2.1.1. Behandlung	7
2.2. Urinproben	8
2.3. Methodik	8
2.3.1. Lysozym	8
2.3.2. Retinol-bindendes Protein	10
2.3.3. Gesamteiweiß im Urin	10
3. ERGEBNISSE	
3.1. Allgemeines	11
3.2. Lysozym im Urin	12
3.3. Retinol-bindendes Protein	13
3.4. Eiweiß	13
3.5. Kreatinin	14
3.6. Tabellarische und graphische Darstellung ausgewählter LZM und RBP-Ergebnisse	14

4.	DISKUSSION	
4.1.	Anmerkung zur Methodik	22
4.1.1.	Lysozym	22
4.1.2.	Retinol-bindendes Protein	23
4.2.	Ursachen von LZM-urie. Allgemeines	25
4.3.	Ausschluß entzündlicher Nierenerkrankungen	26
4.4.	Ausschluß hämatologischer Erkrankungen	27
4.5.	Charakterisierung der Patientengruppe	28
4.6.	Ausschluß von Tranexamsäure als LZM-urie-Ursache	29
4.7.	Tubulusfunktionseinschränkung durch Aprotinin	30
4.7.1.	Parallelen zur Aminoglycosid-Nephrotoxizität	30
4.7.2.	Konkurrenz basischer Moleküle	32
4.7.3.	Proteasenhemmung: Eine Spekulation	32
4.8.	Bedeutung und Bewertung der Beobachtung	33
5.	ZUSAMMENFASSUNG	35

LITERATURVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

RBP	Retinol-bindendes Protein
LZM	Lysozym
MG	Molekulargewicht
SD	Standardabweichung
$\mu\text{g/ml}$	10^{-6}g/ml
IEP	Isoelektrischer Punkt
CML	chronisch myeloische Leukämie
SAB	Subarachnoidalblutung
$\text{B}_2\text{-MG}$	$\text{B}_2\text{-Microglobulin}$

1. EINLEITUNG

1.1. Lysozymstoffwechsel. Lysozymurie bei Nierenkrankheiten

Lysozym (LZM) (6,16,21,63) kommt ubiquitär im menschlichen Organismus vor. Eines der Gewebe, in denen dieses Enzym hauptsächlich gebildet wird, ist der myeloische Anteil der Hämpoese, d.h., es tritt in den granulierten, phagozytierenden Elementen der Blutbildung und deren Vorläufern auf (15,23,44). Dies ist im Zusammenhang mit der spezifischen Enzymfunktion von LZM zu sehen: Es hydrolysiert Bakterienwandbestandteile und spielt daher eine wichtige Rolle bei der unspezifischen Abwehr.

Der LZM-Spiegel im Plasma ist weitgehend vom Umsatz der neutrophilen Granulozyten abhängig (24). Aufgrund seines geringen Molekulargewichtes von ca. 14.000 (6,63) wird es glomerulär aus dem Plasma filtrierte und vollständig tubulär rückresorbiert (17,27,40,41,42). Demnach ist es im normalen Urin nur spurenweise nachweisbar. Zur Lysozymurie, also zur renalen LZM-Ausscheidung, kommt es nur unter pathologischen Bedingungen. Im Bereich der Nephrologie gehören zu diesen krankhaften Zuständen entzündliche (z.B. Pyelonephritiden, Transplantatabstoßung) und toxische (z.B. Schwermetallvergiftung, Gentamycin) Nierenerkrankungen. Die Ausscheidung von LZM wird bei diesen Krankheiten im Rahmen einer sogenannten tubulären Proteinurie beobachtet (7,14,28,29). Zu den tubulären Proteinen gehören neben LZM z.B. β_2 -Mikroglobulin und das Retinol-bindende Protein (40).

1.2. Primäre und sekundäre Lysozymurie bei Leukämien

Osserman und Lawlor beschrieben 1966 die pathologische Erhöhung des LZM-Gehaltes von Serum und Urin bei Kranken mit Monozyten und myelomonozytärer Leukämie (47).

In der Folge dieser Beobachtungen erschienen viele Publikationen, die sich mit der klinischen Bedeutung der LZM-Bestimmung für die Diagnose, die Prognose und die Verlaufsbeobachtung von Hämoblastosen befaßten.

Entsprechend der Herkunft von LZM aus den myeloischen Zellen, lassen sich erhöhte Serumspiegel regelmäßig sowohl bei akuten als auch bei chronischen myeloischen Leukämien finden, wobei die LZM-Erhöhung auf die Freisetzung aus einer tumorös vermehrten Zellmasse zurückgeht. Das Phänomen der **primären LZM-urie**, d.h. der LZM-Ausscheidung vor Behandlungsbeginn, konnte dagegen regelmäßig nur bei den seltenen monozytären und einigen höher differenzierten akuten Leukämien gesehen werden. Bei Verlaufsstudien an solchen Leukämiepatienten fand man eine **sekundär** gesteigerte LZM-Ausscheidung unter zytotoxischer Therapie, bei der es in Folge des therapeutisch bedingten Zellunterganges zum erhöhten Anfall des Enzyms kommt (58,60,62,64).

1.3. Ein Fall von CML mit sekundärer Lysozymurie bei antifibrinolytischer Behandlung

Es lag daher nahe, bei Patienten mit CML, die in aller Regel auch in floriden Krankheitsstadien keine primäre LZM-urie aufweisen (50), eine vermehrte sekundäre LZM-Ausscheidung dann zu erwarten, wenn unter therapeutischer Zytoreduktion die bei dieser Krankheit z.T. erhebliche myeloische Zellmasse untergeht bzw. metabolisiert wird.

Ledderose untersuchte bei 48 CML-Patienten 57 Phasen solcher Reduktion hoher peripherer Leukozytenzahlen (36), wie sie bei dieser Krankheit in unkomplizierten Krankheitsstadien mit Busulfan und/ oder Milzbestrahlung routinemäßig erreicht werden kann. **Entgegen** der Erwartung wurde in keinem dieser Fälle eine sekundäre LZM-urie beobachtet, bis auf

eine Ausnahme (Fall Bo. aus (61,62)). *) Bei diesem Patienten wurde - ausgehend von negativen Urinwerten - eine zeitlich begrenzte LZM-urie mit einem Maximum am 28. Tag nach Einleitung der therapeutischen Milzbestrahlung gesehen (Abb.1). Ein Vergleich der klinischen Daten bei der untersuchten Patientengruppe zeigte, daß dieser Patient als einziger unter einem komplizierenden paraneoplastischen Fibrinolyse-syndrom litt, das zur gleichen Zeit wie die Milzbestrahlung mit Anvitoff^R und Trasylol^R behandelt wurde. Beide Vorkommnisse, also die sekundäre LZM-urie und die antifibrinolytische Behandlung, traten bei 57 vergleichbaren Krankheitsphasen nur einmal, und zwar gleichzeitig, auf (Bezeichnenderweise kam es bei diesem Patienten später, bei einer erneuten therapeutischen Zytoreduktion, nicht mehr zu einer LZM-urie; eine Notwendigkeit zur antifibrinolytischen Behandlung bestand zu dieser Zeit ebenfalls nicht mehr). Es lag nahe, bei dem zeitlichen Zusammenhang beider Vorkommnisse einen ursächlichen Zusammenhang zu vermuten.

1.4. Ein Fall von Prostatakarzinom mit Lysozymurie bei antifibrinolytischer Behandlung

Daher wurden bei einem weiteren Patienten mit schwerer Hyperfibrinolyse ebenfalls Lysozymbestimmungen im Urin durchgeführt (37). Das Hyperfibrinolyse-syndrom bestand bei diesem Patienten als Paraneoplasie bei einem Prostatakarzinom. Während der Beobachtungszeit wurde keine zytostatische Therapie durchgeführt, und es wurden keine hämatologischen Auffälligkeiten festgestellt. Das Maximum der LZM-urie wurde etwa 12 Tage nach Beginn der Behandlung mit Trasylol^R erreicht. Das Ausmaß war im Vergleich zum Fall Bo. geringer (Abb.2).

*)Weitere 4 Fälle mit LZM-urie, die in dieser Arbeit beschrieben wurden, stellen Sonderfälle dar und können nicht mit den unkomplizierten Krankheitsstadien der CML-Patienten verglichen werden: zwei Patienten befanden sich im finalen Blastenschub; bei einem Fall mit kurzer Beobachtungszeit bestand der Verdacht auf eine atypische Leukämieform; bei einem Patienten bestand eine Philadelphia-Chromosom negativ CML, bei der eine primäre LZM-urie oft als Charakteristikum gefunden wird (49).

Bestand im Fall Bo. eine hämatologische Erkrankung mit einer großen myeloischen Zellmasse, die als Ursprung der LZM-Ausscheidung anzusehen war, lag in diesem Fall eine nicht-hämatologische Erkrankung vor. Umso eher war man also berechtigt, die auslösende Ursache der LZM-urie in der antifibrinolytischen Therapie zu sehen.

1.5. Retinol-bindendes Protein

Sollte sich die durch Einzelfallbeobachtungen ausgelöste Vermutung eines Zusammenhanges zwischen antifibrinolytischer Behandlung und LZM-urie bestätigen lassen, könnte als Ursache eine tubuläre (also nephrogene) Funktionsstörung vorliegen (s.4.2.). LZM-urie wäre dann als Ausdruck einer tubulären Proteinurie aufzufassen.

Zum Nachweis einer tubulären Proteinurie lassen sich neben LZM mehrere weitere, z.T. ebenfalls kleinmolekulare, glomeruläre gefilterte Proteine bestimmen. Zu diesen gehört das Retinol-bindende Protein (RBP) (β -2-Mikroglobulin, das bei entsprechenden Fragestellungen oft als Messparameter dient, weist gegenüber RBP mehrere gravierende Nachteile auf (4)).

Bei den hier vorgelegten Untersuchungen sollte geprüft werden, ob neben LZM auch RBP unter antifibrinolytischer Therapie vermehrt ausgeschieden wird. Gegebenenfalls läge damit ein Hinweis für eine Proteinurie-auslösende Folge dieser Behandlung vor.

1.6. Fragestellungen

Es sollte an einer größeren Patientenzahl untersucht werden:

1. Ob ein Zusammenhang zwischen LZM-urie und antifibrinolytischer Therapie regelmäßig nachweisbar ist.

2. Ob unter den antifibrinolytischen Medikamenten Trasylol^R als auslösende Ursache definiert werden kann.

3. Welches Ausmaß die LZM-Ausscheidung unter dieser Behandlung erreicht, und welche zeitlichen Beziehungen vorliegen.

4. Ob im Zusammenhang mit der Trasylol^R-Behandlung ebenfalls eine erhöhte RBP-Ausscheidung nachweisbar ist.

5. Ob daher eine durch Trasylol^R ausgelöste kleine molekulare Proteinurie postuliert werden kann.

Legende zu Abb. 1 und 2 auf Seite 5:

Abb. 1:

Patient Bo: zeitlich begrenzte LZM-urie mit Maximum am 28. Tag unter Milzbestrahlung und Therapie mit Anvitoff^R und Trasylol^R.

Abb.2:

Patient O: LZM-urie mit Maximum am 16. Tag unter Therapie mit Trasylol^R.

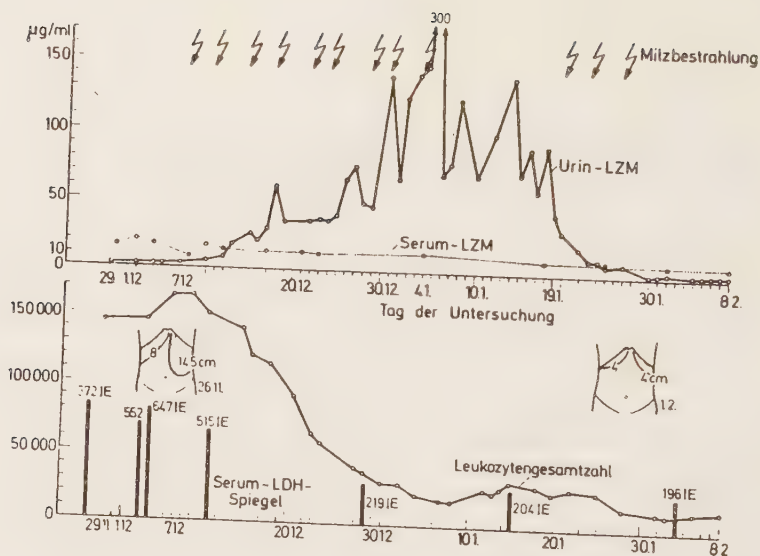


Abb. 1

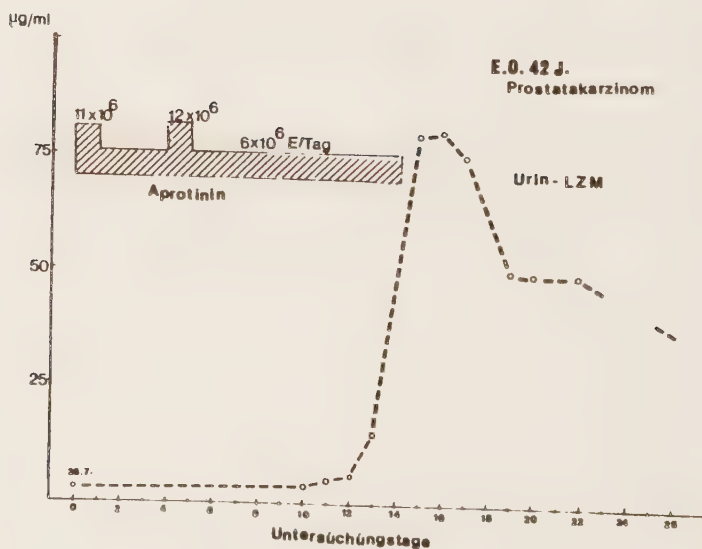


Abb. 2

2.: MATERIAL UND METHODEN

2.1. Patienten

Die Untersuchungen wurden an 21 Patienten durchgeführt, die während des ersten Halbjahres 1982 in der Neurochirurgischen Klinik des Klinikums Großhadern der Universität München stationär behandelt wurden. Alle Patienten hatten eine Subarachnoidalblutung mit den unterschiedlichen klinischen Schweregraden I - III erlitten. Die Diagnose wurde aus der Anamnese, dem Ergebnis der Lumbalpunktion und aus den Computertomogrammbefunden des Schädels gestellt. Sie wurde in allen Fällen durch die zerebrale Angiographie gesichert.

Die Blutungslokalisationen und -ursachen wurden festgelegt: Bei 18 Patienten war die Ursache ein rupturiertes Aneurysma, bei 2 Patienten eine Angiomblutung. In einem Fall konnte die Blutungsquelle nicht eruiert werden.

Alters- und Geschlechtsverteilung der Patienten gehen aus Tab.1 hervor: die Geschlechtsverteilung war gleich. 13 Patienten erkrankten im jugendlichen und mittleren Lebensalter (bis 50 Jahre), 8 Patienten waren älter.

21 Patienten mit Subarachnoidalblutung

M	W	11-20	21-30	31-40	41-50	51-60	61-70	ALTER
10	11	2	1	2	8	7	1	N

Tab.1

Geschlechts- und Altersverteilung der untersuchten Patienten-
gruppe. Das Durchschnittsalter beträgt 44,3 Jahre.

Bei der Krankenblattauswertung wurde unter den Gesichtspunkten der Fragestellung vorliegender Arbeit besonderes Gewicht auf folgende Punkte gelegt:

1. Erfassung anamnestischer Daten zu begleitenden Nierenerkrankungen und/ oder hämatologischen Krankheiten.

2. Erfassung und Bewertung von hämatologischen und nierenbezogenen Labordaten zu Beginn der Erkrankung und während des Krankheitsverlaufes. Dazu gehörten: Gesamt-leukozytenzahl, Hämoglobin, Thrombozyten, Differentialblutbild, Elektrolyte, Kreatinin, Urinsediment, Urineiweiß (Stix).

2.1.1. Behandlung

Zur Zeit der Erarbeitung vorliegender Daten wurden die SAB-Patienten der Neurochirurgischen Klinik des Klinikums Großhadern bis zum jeweiligen Operationstermin konservativ antifibrinolytisch mit einer Kombination von 3 g Tranexamsäure (Ugurol^R) und 1.5 Mio KIE Aprotinin (Trasylol^R) pro Tag behandelt (3). Dazu kamen 2 - 3 x 8 mg Dexamethason i.v., Verapamil (Isoptin^R) in unterschiedlicher Dosierung sowie Pirenzepin und Cimetidin. Blutdrucksenkung erfolgte mit Clonidin. Die antifibrinolytische Therapie wurde mit dem Operationstermin beendet (Abb.3).

Bei Patienten, bei denen kein Aneurysma festgestellt wurde, wurde bis zum Abklingen der Beschwerden nur diese konservative Behandlung durchgeführt. Eine Operation erfolgte nicht.

Diagnose einer SAB	Operation
APROTININ 3 x 500.000 I.E.	
TRANEXAMSÄURE 3 x 1g	
2-3 x 8mg DEXAMETHASON	
weitere Medikamente: Verapamil, Pirenzepin, Cimetidin, Clonidin	

Abb. 3:

Antifibrinolytische Therapie und Begleitmedikation bei SAB bis zum Operationstermin

2.2. Urinproben

Es wurden 313 Urinproben untersucht. Bei der Sammlung wurde Wert auf eine möglichst lückenlose tägliche Probengewinnung vom Aufnahmetag bis zur Entlassung bzw. Verlegung des Patienten gelegt. Die Proben stammten weitestgehend einheitlich vom morgentlichen Spontan- oder Katheterurin. Die frischen Proben wurden ohne Zusatz von Konservierungsmitteln bei -20°C eingefroren, zur Untersuchung bei Raumtemperatur aufgetaut und vor der Untersuchung gut gemischt.

2.3. Methodik

2.3.1. Lysozym

Das Prinzip der für klinisch-praktische Fragen eingesetzten Methoden zur LZM-Aktivitätsmessung beruht auf bakteriolytischen Vorgängen. LZM katalysiert die Hydrolyse der beta - 1,4 - Glykosidbindung zwischen N-acetylglukosamin und N-acetyl-Muraminsäure. Mucopetid, ein Wandbestandteil der meisten Bakterien, setzt sich aus den genannten

Verbindungen zusammen. Bei deren hydrolytischer Spaltung werden die Bakterienwandstrukturen zerstört. Die enzymatische Lyse von Bakterien in einer Suspension führt zu optischen Klärungsvorgängen. Diese Lyse ist zwar nur ein indirektes Maß für die Zahl der Bindungen, die durch LZM gespalten werden, stellt aber einen brauchbaren Vergrößerungsfaktor dar.

Die Wand von *Mikrokokkus luteus* besteht fast vollständig aus Mukopeptid. Deshalb wird dieses Bakterium (nach Devitalisierung durch UV-Licht) für die LZM-Aktivitätsmessung verwendet (21).

Für die vorliegende Untersuchung wurde für die LZM-Messung die "Lysoplate"-Methode nach Osserman und Lawlor (47) in modifizierter Form (64 und eigene Abwandlung) verwendet.

Nach gleichmäßiger Aufschwemmung der UV-abgetöteten Bakterien in gepufferter Agaroselösung von 64° C wird die Suspension zwischen zwei Glasplatten gegossen, die mit konstantem Abstand voneinander montiert wurden. Nach Erkalten des Gels werden definierte Mengen (Mikropipette) der Proben gleichzeitig mit Standardlösungen (5,10,50,100,500 µg/ml) einer gereinigten menschlichen LZM-Präparation in ausgestanzte Löcher einpipettiert.

Nach einer Laufzeit von 16 bis 20 Stunden bei Raumtemperatur lassen sich die Durchmesser der im Gel entstandenen Lysehöfe ausmessen. Semilogarithmisch aufgezeichnet ergibt sich für die Standardwerte über weite Konzentrationsbereiche eine lineare Kurve, an der die Probewerte graphisch ermittelt werden können. Die Präparation von menschlichen LZM zur Verwendung als Standard erfolgte mit der Bentonit-Adsorptionsmethode (1) aus dem Urin eines Patienten mit Monozytenleukämie und LZM-urie. Zur Kontrolle dienten Urinproben von 42 Normalpersonen. Der Mittelwert betrug $0.61 \pm 0.49 \text{ µg/ml } (\bar{x} \pm s)$.

2.3.2. Retinol-bindendes Protein

Das RBP ist im Serum das Transportprotein für Vitamin A und zählt mit einem Molekulargewicht von ca. 21.000 wie LZM zu den kleinmolekularen Proteinen. Seine normale Serumkonzentration liegt bei 45 mg/l, seine Urinkonzentration unter 0.5 mg/l (34). Die quantitative Bestimmung des RBP im Urin erfolgte durch die einfache, radiale Immunodiffusionsmethode nach Mancini et al (43) in der Modifikation nach Angener (2). Für die Bestimmung wurden kommerziell erhältliche LC-Partigen^R Platten mit entsprechenden Standard-RBP-Seren (Behring) verwendet. Die Diffusionsgeschwindigkeit der antigenhaltigen Lösungen im antikörperhaltigen Agar ist temperaturabhängig. Die Ausbildung der Präzipitate ist bei Raumtemperatur nach etwa 48 Stunden beendet. Das Ablesen der Durchmesser der Präzipitatringe erfolgte mit einer Meßlupe. Die quadrierten Durchmesser (d^2 in mm^2 , Ordinate) sowie die Konzentration in mg/100 ml (Abszisse) werden auf Millimeterpapier aufgetragen. Die Konzentrationswerte der Standardlösungen liegen auf einer Geraden, an der die RBP-Konzentrationen der unbekannten Proben graphisch ermittelt werden.

2.3.3. Gesamteiweiß im Urin

Zum Ausschluß einer großmolekularen Proteinurie wurden die Urinproben "gestixt" (Albustix^R der Firma Ames). Bei positiven Eiweißnachweis und bei erhöhter LZM- und RBP-Ausscheidung wurde die Gesamteiweißmenge mit der Biuret-Methode quantitativ bestimmt (53).

3. ERGEBNISSE

3.1. Allgemeines

Von den 21 untersuchten Patientenverläufen konnten 19 ausgewertet werden. Bei 2 Patienten war eine Auswertung nicht möglich, da sie innerhalb weniger Tage nach Klinikaufnahme verstarben; beide Patienten hatten eine SAB Grad III erlitten. Bei den verbleibenden 19 Patienten konnten folgende, für die Auswertung wichtige, Begleiterkrankungen durch Anamnese sowie Laborbefunde ausgeschlossen werden:

a) **Hämatologische Erkrankungen:** Bei allen Patienten wurden durch die Bewertung von Hämoglobin, Hämatokrit, Thrombozytenzahl, Leukozytenzahl und Differentialblutbild Krankheiten des blutbildenden Systems ausgeschlossen. Durch die Behandlung mit Dexamethason 2 - 3 x 8 mg täglich kam es bei allen Patienten zu einem Anstieg der absoluten Leukozytenzahl und der relativen Granulozytenanteile. Die beobachteten Maximalwerte lagen bei 24.000 Leukozyten/mm³, die Durchschnittswerte bei 14.000 Leukozyten/mm³.

b) **Nierenerkrankungen:** Bei keinem der auswertbaren Patienten konnten Nierenkrankheiten anamnestisch festgestellt werden, bis auf einen Patienten (R.R.) mit Nephrolithiasis. Bei der Aufnahmeuntersuchung waren bei sämtlichen Patienten die nierenabhängigen Laborwerte normal bzw. ohne pathologischen Befund: Es konnten keine Kreatinin- oder Harnstoffkonzentrationserhöhungen im Serum, keine Elektrolytstörungen und keine auffälligen Urinsedimentbefunde festgestellt werden. Ebenso bestand in keinem Fall eine mit der Stixmethode feststellbare Proteinurie.

3.2. Lysozym im Urin

Bei allen 19 ausgewerteten Patienten war bei Klinik-aufnahme die LZM-Urinkonzentration negativ.

Ein Anstieg des Urin-LZM konnte bei allen Patienten beobachtet werden, wenn die Möglichkeit bestand, über einen entsprechenden Zeitraum Urinproben zu untersuchen. Dies war bei 16 Patienten der Fall. Bei 2 Patienten war der Beobachtungszeitraum zu kurz, um einen Anstieg des Urin-LZM zu beobachten. Ein Patient (Patientin M.G.) stellt einen Sonderfall dar, da nur Behandlung mit Tranexamsäure erfolgte. Die ersten Werte, die sicher oberhalb des $\bar{x} \pm s$ -Bereichs 1,1 µg/ml LZM lagen (s. 2.3.1.), traten zwischen dem 5. und 15. Tag auf (Durchschnitt: 9. Tag).

Die Maximalwerte lagen zwischen 7 µg/ml und 50 µg/ml LZM (Durchschnitt: 30,5 µg/ml). Da nicht bei allen Patienten der Kurvenverlauf bis zur Normalisierung verfolgt werden konnte, ist es möglich, daß bei diesen Patienten bei längerer Beobachtung höhere Werte aufgetreten wären. Die Maximalwerte traten bei den 16 Patienten zwischen dem 9. und 35. Tag auf (Durchschnitt: 19. Tag).

Bei Betrachtung der LZM-Ausscheidungsverläufe in Beziehung zur Dauer der antifibrinolytischen Therapie zeigte sich, daß die Steigerung der Ausscheidung in allen Fällen bereits während der Aprotinin-Tranexamsäure-Behandlung begann und ihre Maximalwerte zwischen dem 2. und 12. Tag (Durchschnitt: 6. Tag) nach Absetzen der Medikation erreichte. Eine Ausnahme bildete der Patient G.H., bei dem der maximale LZM-Wert (45 µg/ml) zwei Tage vor Medikations-ende (17. Therapietag) erreicht wurde.

Keine LZM-urie trat bei der Patientin M.G. auf, die nur mit Tranexamsäure behandelt wurde. Sie erhielt Tranexamsäure über 30 Tage, wobei 7 Tage vor und 4 Tage nach Absetzen des Medikamentes kein LZM-Anstieg beobachtet werden konnte.

3.3. Retinol-bindendes Protein

Bei allen 19 ausgewerteten Patienten war bei Klinik-aufnahme die Konzentration von RBP im Urin negativ. Eine pathologische Ausscheidung von RBP im Urin liegt bei Werten über 0,5 µg/ml vor (s. 2.3.2.). Die RBP-Ausscheidung verlief in 16 Fällen parallel zur LZM-Ausscheidung. In 3 Fällen erfolgte bei geringer LZM-Ausscheidung (maximal: 10 µg/ml) keine meßbare Ausscheidung von RBP. Nur gering erhöhte RBP-Werte bei hohen LZM-Werten konnten bei einigen weiteren Patienten beobachtet werden. Dies war bei den Patienten G.S., D.A. und R.K. der Fall, deren maximale LZM-Werte bei 50 µg/ml lagen, ihre RBP-Werte aber bei nur maximal 2,1 µg/ml.

Die ersten Werte an RBP, die sicher oberhalb 0,5 µg/ml lagen, traten zwischen dem 7. und dem 23. Tag auf (Durchschnitt: 12. Tag). Die Maximalwerte lagen zwischen 0,7 µg/ml und 8,5 µg/ml RBP (Durchschnitt: 3,6 µg/ml). Die Maximalwerte traten zwischen dem 10. und dem 70. Tag auf (Durchschnitt: 20. Tag).

3.4. Eiweiß

Die physiologische Eiweißausscheidung liegt beim Gesunden unter 100 mg/l. Der bei den untersuchten Urinproben beobachtete Maximalwert lag bei 0.84 g/l (Patient: D.A.). Die Durchschnittswerte bei einigen weiteren Patienten lagen bei 0,35 g/l und somit in einem Bereich, der bei tubulärer Proteinurie erwartet wird. Im Großteil der Fälle war die Eiweißausscheidung - wenn überhaupt - nur gering über die physiologische Proteinurie erhöht.

3.5. Kreatinin

Das Serumkreatinin lag bei allen Patienten sowohl bei der Aufnahme in der Klinik als auch während des untersuchten Zeitraums im Normbereich.

3.6. Tabellarische und graphische Darstellung ausgewählter LZM- und RBP-Ergebnisse

Tabelle 2 und 3 enthalten folgende Daten: Geschlecht, Alter, Anamnese, SAB-Grad, Dauer der antifibrinolytischen Behandlung, Tag nach Behandlungsbeginn, an dem zum ersten Mal ein LZM-Wert über $1,1 \mu\text{g/ml}$ auftrat, den Tag, an dem der maximale LZM-Wert auftrat, sowie diesen Wert selbst.

In Abb. 4 wurden alle gemessenen LZM-Werte den Tagen nach Behandlungsbeginn zugeordnet und es wurde versucht, aus den jeweiligen Tagesdurchschnittswerten eine kumulative Kurve zu ermitteln.

Abb. 5 bis 8 zeigen die Verläufe der LZM- und RBP-Ausscheidung von 4 Patienten.

Tab. 2

Patient	Geschlecht	Alter	Grad der SAB	Anamnese	Dauer der Trasyol-behandlung	erster LZM-Wert > 1,1 µg/ml	Maximalwert (Wert/Tag)	Beinerkung
* H.D.	♂	53	SAB I	O.B.	12 Tage	10. Tag	10 µg/ml/16Tag	—
M.L.	♀	40	SAB III		nicht ausgewertet			Sepsis ↑
A.M.	♂	50	SAB II	labiler RR Bronchitis	23 Tage	17. Tag	25 µg/ml/35Tag	ab 36. Tag Aminoglycosid- behandlung
J.R.	♂	17	SAB II	O.B.	21 Tage	7. Tag	45 µg/ml/26Tag	—
M.B.	♀	33	SAB I	O.B.	15 Tage	16. Tag	10 µg/ml/21Tag	—
G.S.	♂	57	SAB II	Hypotonie	24 Tage	14. Tag	45 µg/ml/29Tag	
R.R.	♂	56	SAB I	Nephro- lithiasis	7 Tage	während der beobachteten 7 Tage kein LZM-Anstieg		
CH.R.	♀	58	SAB I	O.B.	11 Tage	11. Tag	25 µg/ml/18Tag	—
J.E.	♀	55	SAB II	O.B.	8 Tage	5. Tag	7 µg/ml/16Tag	Somnolent
T.F.	♀	15	SAB I	O.B.	6 Tage	9. Tag	10 µg/ml/ 9Tag	—

Die LZM- und RRP-Werte der mit * bezeichneten Patienten werden auf Abbildung 5-8 graphisch dargestellt.

Patient	Geschlecht	Alter	Grad der SAB	Anamnese	Dauer der Therapie- behandlung	erster LZM-Wert > 1,1 µg/ml	Maximalwert (LZM/Tag)	Bemerkung
* D.A.	♂	41	SAB III	labiler RR	11 Tage	7. Tag	50 µg/ml/15Tag	—
E.G.	♀	43	SAB II	o.B.	12 Tage	11. Tag	30 µg/ml/15Tag	ab 18. Tag Penicillin- behandlung
* R.K.	♂	41	SAB I	Herzlin- suffizienz Hypertonie	13 Tage	10. Tag	50 µg/ml/23Tag	—
M.G.	♀	61	SAB I	nur Tranexamsäure 3 x 1g/Tag über 15 Tage				keine LZM- urie
Ch.G.	♀	46	SAB I	Bronchitis	11 Tage	5. Tag	ø	Entzugsdelir
M.H.	♀	46	SAB II	Hyperthy- reose	5 Tage	7. Tag	10 µg/ml/17Tag	ab 13. Tag Antithyroid- behandlung
* G.H.	♂	53	SAB II	o.B.	18 Tage	7. Tag	45 µg/ml/17Tag	ab 27. Tag Penicillin- behandlung
P.-H.G.	♂	25	SAB I	o.B.	7 Tage	während der beobachteten 7 Tage kein LZM-Anstieg		
Ch.M.	♀	48	SAB I	labiler RR	8 Tage	11. Tag	6 µg/ml/11Tag	—
L.W.	♀	52	SAB I	o.B.	6 Tage	9. Tag	6 µg/ml/ 9Tag	
K.K.	♂	42	SAB III	nicht ausgewertet				+

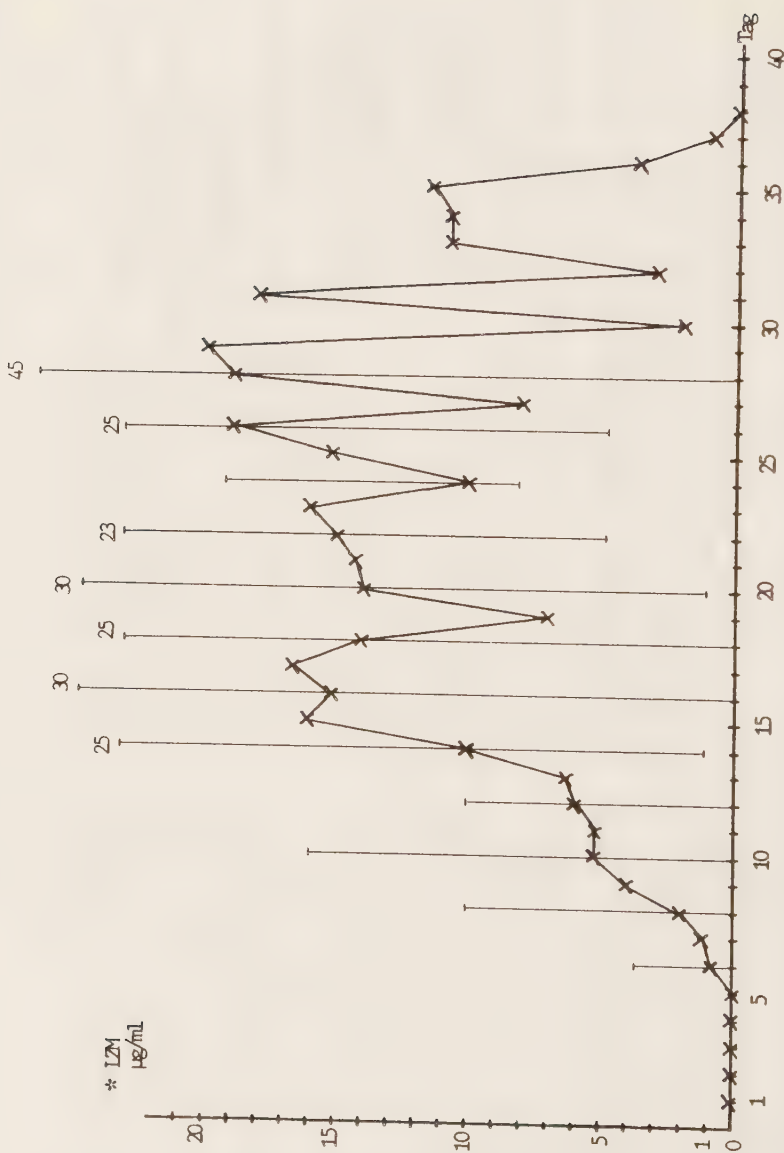


Abb. 4: LZW-Tagesdurchschnittswerte sowie Min.- u. Max.- Werte den Tagen nach Behandlungsbeginn zugeordnet.
 - Nicht enthalten: Patient, der nur mit Tranexamsäure behandelt wurde.
 Patient, der mit Aminoglykosid behandelt wurde.

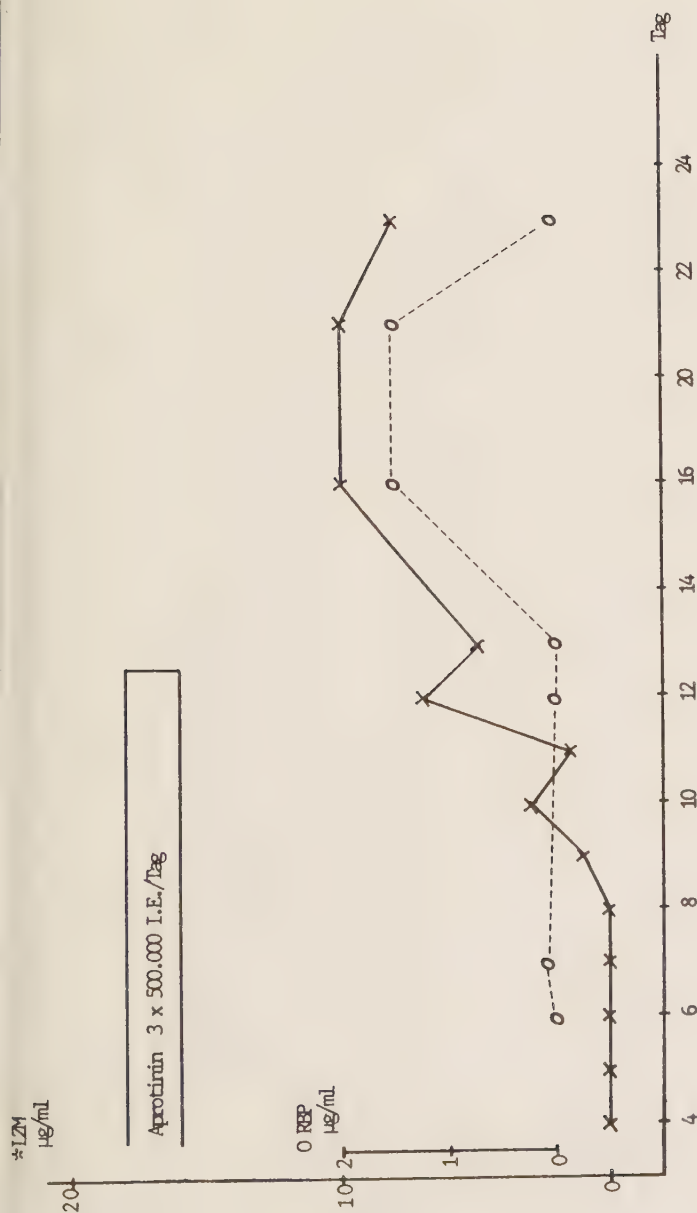


Abb. 5: Pat. H.D.: Antifibrinolytische Therapie über 12 Tage;

Maximaler LZM-Wert 10 $\mu\text{g/ml}$ am 16. Tag;

Maximaler RBP-Wert 1,5 $\mu\text{g/ml}$ am 16. Tag.

LZM: x ——— x

RBP: o ----- o

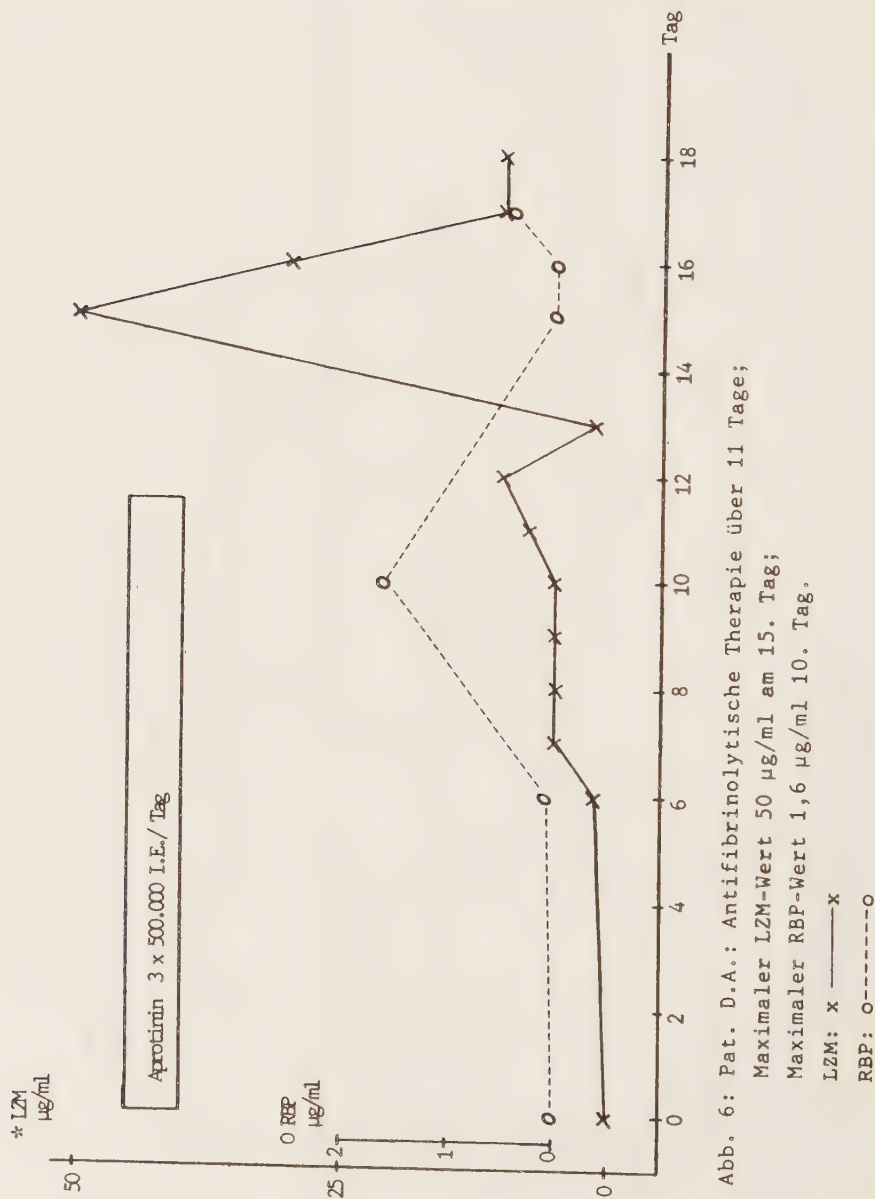


Abb. 6: Pat. D.A.: Antifibrinolytische Therapie über 11 Tage;

Maximaler LYM-Wert 50 µg/ml am 15. Tag;

Maximaler RBP-Wert 1,6 µg/ml 10. Tag.

LYM: x ————x

RBP: o —-----o

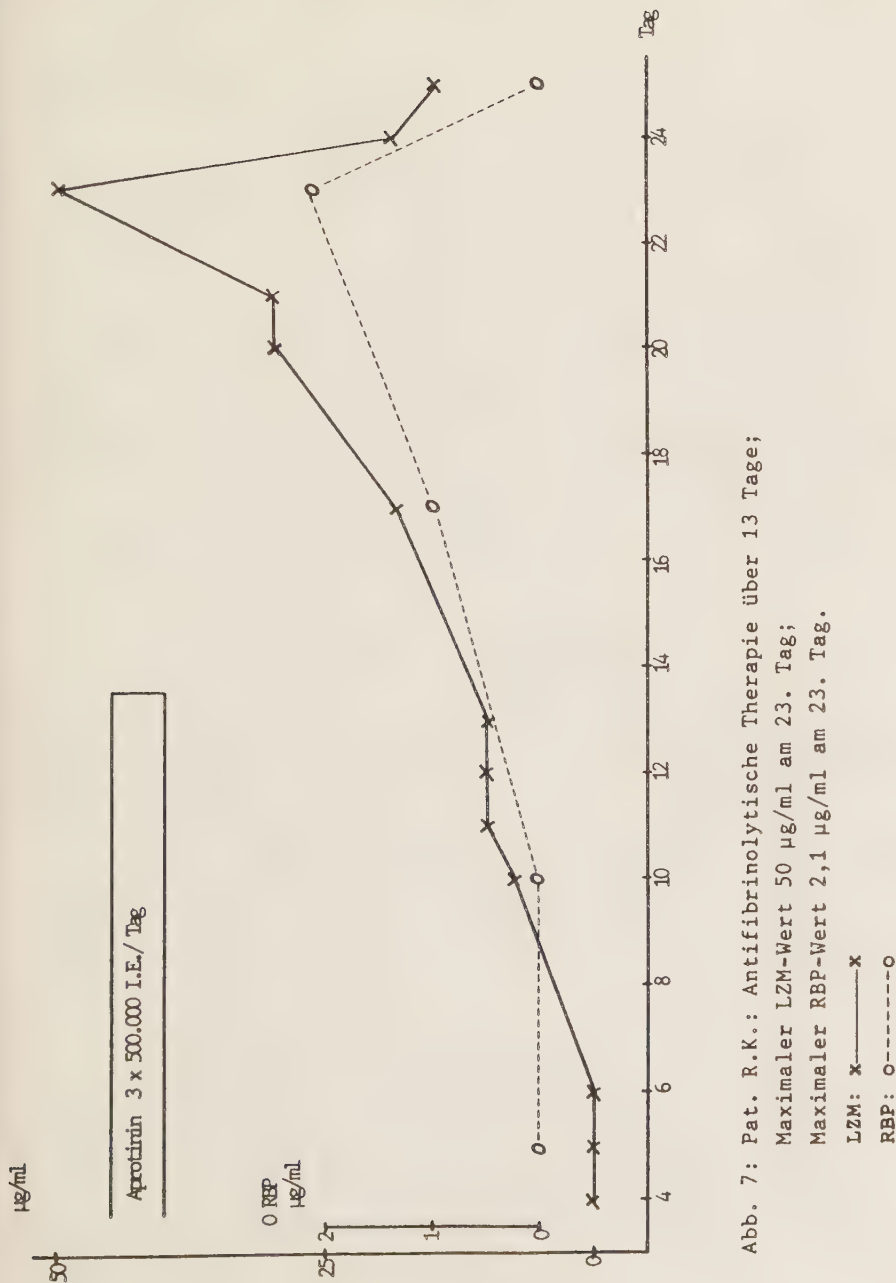


Abb. 7: Pat. R.K.: Antifibrinolytische Therapie über 13 Tage;

Maximaler LZM-Wert 50 µg/ml am 23. Tag;

Maximaler RBP-Wert 2,1 µg/ml am 23. Tag.

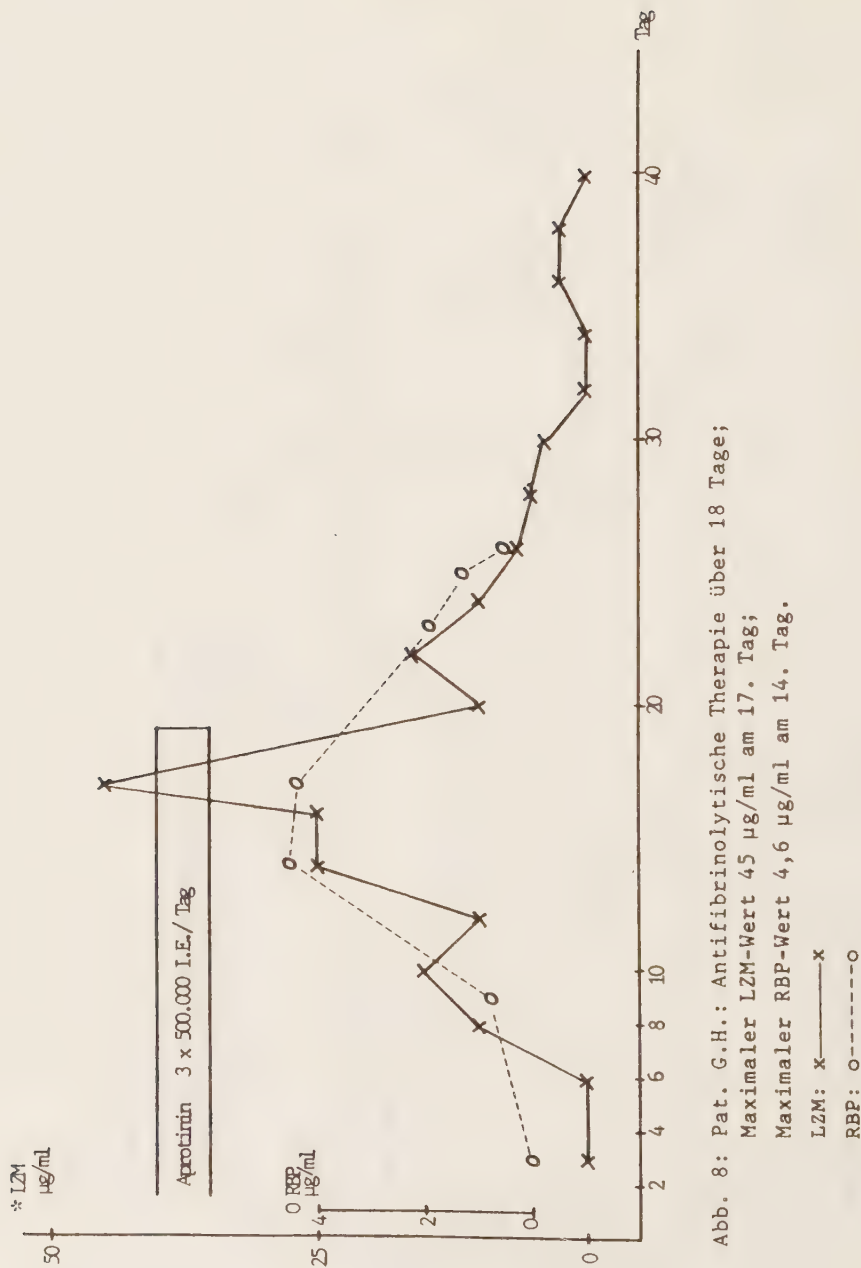


Abb. 8: Pat. G.H.: Antifibrinolytische Therapie über 18 Tage;
 Maximaler LZM-Wert 45 µg/ml am 17. Tag;
 Maximaler RBP-Wert 4,6 µg/ml am 14. Tag.

LZM: x ——— x

RBP: o - - - - - o

4. DISKUSSION

4.1. Anmerkungen zur Methodik

4.1.1. Lysozym

Bei der Durchsicht neuerer Arbeiten, die sich mit Fragestellungen befassen, bei denen LZM-Konzentrationen gemessen werden, findet man als Bestimmungsmethode überwiegend die ursprünglich von Litwack (38) angegebene turbidimetrische Messmethode. Dabei wird die konzentrationsabhängige enzymatische Klärungsreaktion in einer Bakteriensuspension in der Kuvette gemessen. Der Vorteil dieser Methode liegt in der Kürze der Zeit, in der das Ergebnis photometrisch abgelesen werden kann. Der Nachteil liegt im vergleichsweise größeren Aufwand pro Einzelprobe.

Für die vorliegende Arbeit bevorzugten wir die Lysoplattenmethode (47), die die Ergebnisse zwar erst nach längerer Laufzeit liefert; dieser Nachteil fällt aber außerhalb des Routinelabors nicht ins Gewicht, da die Ansätze abends gemacht werden können und die Ablesung morgens erfolgt. Ein großer Vorteil liegt bei dieser Methode vor allem darin, daß große Probenanzahlen gleichzeitig bestimmt werden können (15 pro Platte). Diese Methode ist daher für Verlaufsuntersuchungen mit umfangreichem Bestimmungsmaterial, wie es in der vorliegenden Arbeit bearbeitet werden mußte, eher geeignet.

Die Verwendung einer aus dem Urin eines Patienten mit Monozytenleukämie im eigenen Labor isolierten humanen LZM-Präparation als Standard hat zur Folge, daß LZM-Konzentrationen in anderen Arbeiten dann nicht als Absolutwerte zu vergleichen sind, wenn dort Hühnereiweiß-LZM als Standard verwendet wird (wie zum Beispiel bei der kommerziell erhältlichen Testmethode LZM-Testomar^R Behring). Humanes LZM ist etwa 3 - 12-fach aktiver als Hühnereiweiß-LZM (47).

Für die Beobachtung der Thermolabilität von Serum-LZM bei entzündlichen Darmerkrankungen (67) fand sich bei den vorliegenden Urinuntersuchungen keine Parallelität. Bei stichprobenartiger Überprüfung der LZM-Aktivität in Proben, die nach dem ersten Auftauen bei unterschiedlichen Temperaturen gelagert wurden, ergaben sich keine wesentlichen Unterschiede. Eine systematische Überprüfung fand nicht statt. Eine möglicherweise doch vorhandene Empfindlichkeit der LZM-Aktivität gegenüber mehrfachem Auftauen oder Lagerung bei unterschiedlichen Temperaturen auch im Urin (Urin-LZM wurde in (67) nicht untersucht) hätte für den hier verwendeten Ansatz insofern keine praktische Konsequenzen, als alle Proben gleichartig gelagert und behandelt wurden, also ein homogenes Untersuchungsmaterial vorlag.

Zusammenfassend geht aus dem bisher Gesagten hervor, daß eine direkte Vergleichbarkeit der absoluten LZM-Werte mit publizierten Daten a priori nicht gegeben ist; die verwendeten Methoden müssen überprüft werden. Dennoch kann mindestens semiquantitativ festgestellt werden, daß die hier beobachteten LZM-Ausscheidungswerte im Bereich zwischen etwa 20 und 50 µg/ml (Tab. 2 und 3) als erheblich und damit als hoch pathologisch bezeichnet werden müssen. Die unten erwähnten LZM-Werte bei Nierenerkrankungen (s. 4.3.) wurden unter exakt gleichen methodischen Bedingungen wie in der genannten Arbeit bestimmt (59); sie liegen erheblich niedriger.

4.1.2. Retinol-bindendes Protein

Wie in der Einleitung dargestellt, entwickelte sich die Fragestellung der vorliegenden Arbeit u.a. aus der Beobachtung von LZM-urie bei einem Patienten mit einer nicht-hämatologischen Erkrankung (s. 1.4.). Es konnte ver-

mutet werden, daß die LZM-urie in diesem Fall in Zusammenhang mit einer Funktionsstörung der tubulären Rückresorption stand (s. 4.2.). Um diese Vermutung bei den hier untersuchten Fällen zu erhärten, sollte neben der LZM-Aktivitätsbestimmung eine weitere Methode zur Messung kleinmolekularer Proteine im Urin herangezogen werden.

Zum Nachweis dieser tubulären Funktionsminderung wird im neueren Schrifttum weit überwiegend die Bestimmung des β_2 -Mikroglobulin (B_2 -MG) verwendet (55) (Übersicht bei 54). Die Bestimmung dieses Proteins hat jedoch gewisse Nachteile: Schon die erhöhte Plasmakonzentration kann zur vermehrten Ausscheidung führen. Diese Situation ist für B_2 -MG nicht allzu selten gegeben, z.B. bei Lymphomen und bei vermehrtem Knochenmarkumsatz (8,69). Diesen Nachteil hat B_2 -MG mit LZM gemeinsam, dessen Plasmakonzentration ebenfalls bei entsprechenden pathologischen (in erster Linie hämatologischen) Zuständen erhöht ist und das dann wohl aus diesem Grund vermehrt im Urin ausgeschieden wird. Während bei den untersuchten Fällen solche für LZM relevanten pathologischen Zustände ausgeschlossen werden konnten (s. 4.3. und 4.4.), wären Veränderungen der B_2 -MG-Konzentrationen bei den schweren, mit Blutungen und Gewebsuntergang verbundenen Krankheitsbildern, wie sie die SABen darstellen, durchaus denkbar: B_2 -MG ist als Teil des HLA-Antigens Bestandteil und "shedding"-Produkt aller kernhaltigen Zellen. Untersuchungen zu dieser Frage fehlen.

Ein zweiter, gravierender Nachteil besteht darin, daß B_2 -MG bei pH-Werten unter 5.5 zerstört wird, eine Situation, wie sie im Urin (schon in der Blase, also nicht korrigierbar) oft zu erwarten ist.

In vorliegender Fragestellung wurde der Anregung von Bernard et al (4) gefolgt, die zur Früherkennung von tubulärer Proteinurie die Bestimmung des RBP vorschlagen. Die praktisch einzige, häufig vorkommende Krankheit, bei der die Plasma-RBP-Spiegel erhöht sind, ist das Nierenversagen. Zudem ist RBP stabil bis pH 4.5.

4.2. Ursachen von LZM-urie - Allgemeines

Bereits Fleming wies in seinen ersten Arbeiten über LZM darauf hin, daß normaler Urin keine nachweisbare LZM-Aktivität aufweist, deutliche LZM-Aktivität jedoch im pathologischen Urin ("der viel Albumin und Pus" enthält) erscheint (16). Seither ist es akzeptierte Tatsache, daß LZM nur unter pathologischen Bedingungen in den Sekundärharn übertritt. Auch die LZM-Aktivitäten unseres Normalkollektivs, die als Kontrolle der vorliegenden Bestimmungen dienten, bestätigen diesen Sachverhalt.

Zum Verständnis der Entstehung von LZM-urie müssen mehrere Tatsachen beachtet werden. Einmal ist als sicher anzunehmen, daß LZM als kleinmolekulares Protein glomerulär vollständig gefiltert wird. Nach Übertritt in den Primärharn wird es im Tubulusapparat vollständig rückresorbiert (9,42, 48,52). Zum anderen wird es nicht durch die Tubuluszellen ins Plasma zurückgeschleust, sondern, wie man aus Untersuchungen mit heterologen LZM weiß (5,10,48), in den Tubuluszellen vollständig oder nahezu vollständig abgebaut. Weiter ist zu berücksichtigen, daß die Niere selbst einen hohen Gehalt an LZM aufweist.

Aus histochemischen Untersuchungen geht eine unterschiedliche charakteristische Verteilung der LZM-Konzentration im Nierengewebe hervor (44,57) (Ob es sich hierbei um aus dem Plasma rückresorbiertes, um gespeichertes oder um in situ produziertes Enzym handelt, ist unentschieden).

LZM-urie kann die Folge nachstehender pathologischer Vorgänge sein:

1) gesteigerte lokale Produktion/ Aktivität von Entzündungszellen (Granulozyten, Histiozyten) im Nierengewebe oder im Urogenitaltrakt.

2) Überschreiten der Aufnahme- und Speicherkapazität des Tubulusapparates bei exzessivem Anfall von endogenem LZM.

3) Funktionsstörungen des (proximalen) Tubulusapparates mit Beeinträchtigung der Resorptions- und/ oder Metabolisierungsvorgänge.

Jeder dieser Mechanismen spielt bei bestimmten krankhaften Zuständen die jeweils dominierende Rolle, wenn auch - naheliegenderweise - Übergänge und Kombinationen (z.B. Tubulusschäden bei Nierenentzündungen) vorkommen. Im folgenden sollen bei den von uns beobachteten Fällen von LZM-urie die entsprechenden Mechanismen ausgeschlossen oder wahrscheinlich gemacht werden.

4.3. Ausschuß entzündlicher Nierenerkrankungen

In zahlreichen älteren Arbeiten wurde LZM-urie beschrieben bei Pyelonephritis, nephrotischem Syndrom, chronischen Infektionen (besonders Tuberkulose) und Glomerulonephritiden (13,25,26,28,31). Die beobachteten Werte

der LZM-Ausscheidung lagen in Bereichen zwischen 5 und 50 $\mu\text{g/ml}$. In allen Arbeiten wurde Hühnereiweiß-LZM als Standard verwendet, so daß, wie oben (4.1.1.) erwähnt, eine direkte Vergleichbarkeit mit unseren Werten nicht gegeben ist. Bei Umrechnung auf menschliches LZM als Standard müssen aber generell wesentlich niedrigere Werte angenommen werden.

Die in (58) angegebenen Werte (die unter den gleichen methodischen Bedingungen ermittelt wurden wie die der vorliegenden Arbeit) liegen für chronische Pyelonephritis bei 11.28 ± 11.18 ($N = 7$) und für chronische Glomerulonephritis bei 7.92 ± 8.12 ($N = 6$).

Bei keinem der untersuchten Patienten mit SAB ergaben sich Hinweise für eine entzündliche Nierenerkrankung: sowohl Retentionswerte als auch Urinsedimente waren zu Beobachtungsbeginn als auch im Verlauf nie auffällig.

Diese fehlenden **klinischen** Hinweise sowie die **Höhe** der bei den Patienten mit SAB gefundenen Werte zwischen 20 und 50 $\mu\text{g/ml}$ sprechen gegen eine entzündliche Genese der beobachteten LZM-urie.

4.4. Ausschluß hämatologischer Erkrankungen

Zur exzessiven LZM-Produktion (s.o., Mechanismus 2) kommt es bei pathologischer Proliferation der LZM-synthetisierenden Gewebe bzw. Zellen. Hierbei handelt es sich um die malignen Krankheiten der myeloischen Hämatopoese (s. Einleitung).

Für derartige Erkrankungen fanden sich im untersuchten Patientenkollektiv keinerlei Hinweise. Weder anamnestisch noch im Labor ergaben sich hämatologische Auffälligkeiten. Die regelmäßig beobachteten Leukozytosen lassen sich zwanglos als

a) anfängliche Stressleukozytose bei schwerer Hirn-läsion und

b) später im Verlauf als Folge der Markausschwemmung unter Steroidmedikation erklären.

Die Differentialblutbilder zeigten Normalverteilung und keine pathologischen Zellelemente.

Die bei den Leukosen beobachteten LZM-Urinwerte liegen - allerdings abhängig vom Leukämietyp und vom Beobachtungszeitpunkt im Krankheitsverlauf - wesentlich über den von uns bei den SAB-Patienten beobachteten (z.B. bei Monozyten- und myelomonozytärer Leukämie zwischen 43.0 und 1150.0 µg/ml (N = 8)) (58,60).

Dieser **quantitative** Sachverhalt und die fehlende **Klinik** sprechen gegen eine exzessive endogene LZM-Bildung als Ursache für die beobachtete LZM-urie.

4.5. Charakterisierung der Patientengruppe

Die untersuchte Patientengruppe ist nach Geschlecht und Alter gleichmäßig verteilt. Nicht nur die unter 4.3. und 4.4. behandelten spezifisch für LZM-urie bedeutsamen Krankheiten sind in dieser Gruppe auszuschließen, sondern es handelt sich zudem generell um Patienten ohne ernsthafte Vorerkrankungen. Die SAB selbst bietet keinerlei pathogenetischen Ansatzpunkt zur Erklärung der LZM-urie.

Dieses Kollektiv scheint also besonders geeignet, Stoffwechselstörungen (wie sie die LZM-urie im weitesten Sinn darstellt) zu untersuchen, da die Zahl der Einflußgrößen gering ist.

Als relevante Einflußgröße bleibt bei diesen Voraussetzungen nur die Therapie: Die gleichförmige LZM-urie-Reaktion **aller** Patienten unter der gleichförmigen Therapie läßt den Zusammenhang sicher erscheinen.

4.6. Ausschluß von Tranexamsäure als LZM-urie-Ursache

Die verwendete antifibrinolytische Therapie bestand aus den zwei Komponenten Tranexamsäure (= Trans-AMCHA, Uguro^R) und Aprotinin (s. Abb. 3). Tranexamsäure (MG 157.2) ist ein synthetisches Antifibrinolytikum, das bei oraler Applikation vollständig resorbiert wird und unverändert im Harn ausgeschieden wird. Bei oraler Behandlung von Affen und Beagle-Hunden über Monate mit extrem hohen Dosen (1600 mg/kg) konnte keine Beeinflussung des Blut- und Harnstatus beobachtet werden; ebensowenig keine Beeinflussung der Maus bei Dosen bis zu 200 mg/kg (45).

Aufgrund dieser und ähnlicher Untersuchungsdaten ist eine Potenz der Tranexamsäure zur toxischen Tubulus-schädigung nicht anzunehmen.

In unserem Patientenkollektiv erhielt die Patientin M.G. als antifibrinolytische Medikation nur Tranexamsäure. Bei ihr wurde als einzige **keine** LZM-urie (und keine Ausscheidung von RBP) im Verlauf gesehen. Dieser Fall dient also als Negativkontrolle für die Behandlung mit Aprotinin.

Aus den in den Abschnitten 4.3. bis 4.6. diskutierten Tatsachen ergibt sich zwingend, daß bei den hier beschriebenen Patienten

a) Aprotinin als auslösendes Agens für die LZM-urie anzusehen ist und daß

b) als Auslösemechanismus der in 4.2. genannte Punkt 3), also die tubuläre Funktionsstörung, anzusehen ist.

Eine chronische tubuläre Toxizität von Aprotinin ist bisher unter klinischen und experimentellen Bedingungen nicht beschrieben worden. Zur Erklärung für diesen Effekt auf die Tubuluszelle ergeben sich nach der Auswertung des experimentellen Schrifttums mehrere Modelle. Die beiden plausibelsten Erklärungen stehen im Zusammenhang mit der Basizität des Aprotininmoleküls.

4.7. Tubulusfunktionseinschränkung durch Aprotinin

4.7.1. Parallelen zur Aminoglycosid-Nephrotoxizität

Als Ursache für die bekannte Nierentoxizität der Aminoglykoside wird folgender Mechanismus erwogen: Aminoglycosid-Antibiotika sind Polysaccharide mit hohem Anteil an freien Aminogruppen, die in ungeladenem Zustand als Polybasen (im geladenen als Polykationen) aufgefaßt werden können. Sie dringen nicht in normale Säugetierzellen ein, bis auf eine Ausnahme: Die Tubulusepithelzelle besitzt wahrscheinlich einen Transportmechanismus für polybasische Stoffe (wie er ähnlich für Aminoglycosid-empfindliche Erreger postuliert wird) (32,33). Es ist offenbar dieser Mechanismus, mit dem auch körpereigene basische Polypeptide aus dem Primärharn rückresorbiert werden. Sie lagern sich am Bürstensaum der Tubuluszelle an, werden durch Endozytose aufgenommen und schließlich in den Lysosomen katabolisiert, also in Aminosäuren gespalten (Mittels dieser Vorgänge wird auch das basische LZM-Molekül verstoffwechselt; s.4.2.).

Nach der lysosomalen Aufnahme der Aminoglycoside werden diese jedoch nicht gespalten. Sie werden vielmehr in wasserlösliche Polykationen überführt, die die Lysosomenmembran nicht mehr überwinden können (39,66). Dadurch kommt es zur lysosomalen Konzentrierung, zur Lysosomenzerstörung und zum Austritt proteolytischer Enzyme, die die Tubuluszelle zerstören. Anschließend kommt es zum Auftreten der "tubulären" Proteinurie, d.h. der Ausscheidung tubuluseigener Proteine (zu denen auch das LZM gehört) (20,68). Zwischen Aprotinin und Gentamicin (in den zitierten Studien als repräsentatives Aminoglycosid untersucht) bestehen bezüglich molekularer Eigenschaften und Stoffwechselverhalten folgende Parallelen: Aprotinin ist ein aus 58 Aminosäuren aufgebautes Polypeptid mit ebenfalls starker Basizität (MG 6513). Nach i.v.-Injektion wird es rasch und fast vollständig von der Niere aufgenommen und dort gespeichert (65). Der Absorptionsmechanismus ist ebenfalls gekennzeichnet durch eine hohe Affinität zum Bürstensaum der Tubulusepithelien.

Wie Gentamicin wird Aprotinin durch Endozytose aufgenommen und in den Lysosomen angereichert. Der Abbau in Peptide und Aminosäuren erfolgt offenbar sehr langsam. Die Halbwertszeit von Aprotinin in den Tubuli beträgt 70 Stunden (Die HWZ von Gentamicin, dessen Abbau ja nicht proteolytisch vor sich geht, beträgt sogar 109 Stunden) (19,22,32,33,39).

Bei Berücksichtigung dieser Eigenschaften des Aprotinins besteht also durchaus die Möglichkeit, daß die von uns beobachtete kleinmolekulare Proteinurie der Ausdruck einer Nierentoxizität "vom Gentamycintyp" ist.

4.7.2. Konkurrenz basischer Moleküle

Aus Experimenten an der isolierten Rattenniere ergaben sich Hinweise darauf, daß Gentamycin nicht nur den intrazellulären Katabolismus von LZM in den Tubuluszellen stören kann, sondern auch die primäre Reabsorption (11). Als Ursache wird eine Konkurrenz dieser beiden basischen Substanzen um anionische Bindungsstellen am Bürstensaum vermutet (5,12,32). Analog könnte eine Verdrängung durch das basische Aprotinin zurückzuführen sein.

Dieses Modell würde (zumindest als alleinige Erklärung) allerdings wohl nicht das erhebliche Ausmaß der bei unseren Patienten gefundenen LZM-urie erklären. Ebenso müßte zur Erklärung der Ausscheidung des RBP, das keine basischen Eigenschaften besitzt, eine unspezifische Hemmung der Resorption durch Aprotinin angenommen werden.

4.7.3. Proteasenhemmung - Eine Spekulation

Eine rein spekulative Überlegung, zu der es in der Literatur keine Belege gibt, sei erwähnt: Nachdem Aprotinin unverändert absorbiert wird, könnte es auch intrazellulär seine spezifische, d.h. proteasenhemmende Wirkung behalten. Ein verminderter Abbau resorbierter Proteine in der Tubuluszelle müßte zum Anstau und zur Ausscheidung im Sekundärharn führen. Dieser Vorgang beträfe LZM und RBP gleichermaßen. Bei der langen Halbwertszeit von Aprotinin im Tubulus käme es zur Kumulation und zur allmählichen Steigerung des Proteasenhemmeffektes. Dies könnte den beobachteten Anstieg der LZM-Ausscheidung und das "Nachhängen" nach Absetzen des Aprotinins bei unseren Patienten erklären.

4.8. Bedeutung und Bewertung der Beobachtung

Eine LZM-urie bzw. kleinmolekulare Proteinurie unter der Behandlung mit Aprotinin wurde bisher nicht beschrieben, obwohl hinsichtlich der Arzneimittelsicherheit von Trasylol^R eine mögliche Nierentoxizität ein für die Klinik wichtiger Gesichtspunkt ist, und daher umfangreiche Untersuchungen zu dieser Frage durchgeführt wurden (Auch glomeruläre Schäden wurden bei den üblichen Anwendungsmodalitäten nicht gesehen).

In der einzigen **experimentellen** Arbeit, in der Nierenschäden nach der Anwendung von Aprotinin auftraten (30) wurden unter extremer Dosierung (20.000 KIE/kg/Std., kontinuierliche Dosierung) bei Ratten nach kurzer Anwendungsdauer Funktionsstörungen wie bei akutem Nierenversagen mit Kreatininanstieg und Natrium-Rückresorptionsverlust gesehen. Diese Untersuchung, deren Versuchsanordnung mit der klinischen Situation der hier beschriebenen Patienten nicht vergleichbar ist, können keinen Beitrag zur Interpretation der vorliegenden Beobachtungen liefern.

Bei ihren Untersuchungen zum Mechanismus der Gentamycintoxizität (32,33) konstatierten Just und Habermann als überraschendes Ergebnis vergleichender Untersuchungen mit der Polybase Aprotinin eine **fehlende** Nierentoxizität dieser Substanz, obwohl viele gemeinsame funktionelle, physiologische und chemische Eigenschaften bei beiden Substanzen eine tubulusschädigende Wirkung von Aprotinin hätten erwarten lassen. Sie stellten fest, daß offenbar zu seiner Molekülstabilität, zu seiner Resistenz gegen Abbau und zu seiner lysosomalen Konzentration als polybasische Substanz, andere, unbekannte Eigenschaften treten müßten, um Nierentoxizität auszulösen.

Der hier vorgelegte, unter klinischen Verhältnissen erhobene Befund der tubulären Proteinurie unter Aprotinin bestätigt jedoch die nierentoxische Potenz dieser Substanz, macht die Annahme zusätzlicher Eigenschaften zunächst überflüssig und liefert also den klinischen Nachweis zum experimentellen Postulat. Als Auslösemechanismus scheint die Analogie zur Gentamycintoxizität, wie in 4.7.1. ausgeführt, sehr plausibel.

Tubuläre Proteinurie per se gilt nicht als schwerwiegendes Symptom. Vergegenwärtigt man sich jedoch den bekannten funktionellen Zusammenhang zwischen dem tubulären und glomerulären Apparat, wird die Bedeutung der tubulären Proteinurie als **Frühzeichen** einer globalen Nierenschädigung deutlich. Bei den zahlreichen Untersuchungen zur Toxizität bestimmter Arzneimittel (z.B. Gentamycin, Cis-Platin) (11,13,14,18,20), zeigte sich, daß die Tubulustoxizität der Einschränkung des Glomerulumfiltrates vorausgeht und daß daher der Nachweis der tubulären Proteinurie zur **frühzeitigen** Toxizitätskontrolle geeignet ist. In diesem Zusammenhang können die vorliegenden Beobachtungen zur verbesserten Arzneimittelsicherheit von Aprotinin beitragen.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Bei 21 Patienten mit Subarachnoidalblutung, die zwischen 5 und 24 Tagen antifibrinolytisch mit Aprotinin (3 x 500.000 I.E./Tag) und Trans-AMCHA behandelt wurden, wurden Langzeituntersuchungen des Urins auf LZM- und RBP-Ausscheidung zum Nachweis von tubulärer Proteinurie durchgeführt.

Bei **allen** Patienten wurden LZM-Erhöhdungen erheblichen Ausmaßes (durchschnittliche Maxima bei 30,5 µg/ml) gemessen. Die LZM-urie trat im Durchschnitt am 9. Tag nach Behandlungsbeginn auf.

Erhöhte RBP-Werte wurden weitgehend parallel zur LZM-Ausscheidung gefunden.

Als Ursache der LZM-urie waren hämatologische und nephrologische Krankheiten auszuschließen.

Bei einer Patientin, die **nur** mit Trans-AMCHA antifibrinolytisch behandelt wurde, trat keine LZM-urie auf. Dieser Verlauf dient als Negativkontrolle der Aprotininbehandlung. Die tubulustoxische Potenz von Aprotinin war dadurch beweisbar.

Aufgrund der besonderen molekularen Eigenschaften von Aprotinin erscheint als Auslösemechanismus für die tubuläre Schädigung ein ähnlicher Vorgang plausibel, wie er für Aminoglycoside postuliert wird.

Die Beobachtung einer bisher unbekannten toxischen Eigenschaft des Aprotinins hat Bedeutung für die Arzneimittelsicherheit dieser Substanz.

LITERATURVERZEICHNIS

- 1 ALDERTON, G., W.H. Ward and H.L. Fevold: Isolation of lysozyme from egg white.
J. Bio. Chem. 157, 43-58 (1945).
- 2 AUGENER, W.: Immunanalyse von Glykoproteinen.
Protides Biol. Fluids 12, 363-371 (1965).
- 3 BECK, O.J. und R. Marx: Subarachnoidal- und Aneurysma-blutungen. Konservative Therapie.
diagnostik und intensivtherapie 11, 123-126 (1980).
- 4 BERNARD, A.M., D. Moreau and R. Lauwerys: Comparison of retinol-binding protein and β_2 -microglobulin determination in urine for the early detection of tubular proteinuria.
Clin. Chim. Acta 126, 1-7 (1982).
- 5 BEYER, G. et al: Binding of Lysozyme to Brush Border Membranes of Rat Kidney.
Biochimica et Biophysica Acta 732, 372-376 (1983).
- 6 BLAKE, C.C.F. and J.D.A. Swan: X-ray analysis of structure of human-lysozyme at $6\text{\AA}$ resolution.
Nature <London> 232, 12 (1971).
- 7 BOESKEN, W.H., K. Kopf and P. Schollmeyer: Differentiation of proteinuric diseases by disc electrophoretic molecular weight analysis of urinary proteins.
Clin. Nephrol. 1, 311 (1973).
- 8 CAMPOS, L., H. Van, D. Ville, C. Imbert, O. Gentilhomme, Y.C. Luo, D. Fiere and J.I. Viala: Serum B_2 -MG in Adult Myeloid Acute Leukemias.
Blut 48, 221-226 (1984).
- 9 CARONE, F.A. et al: Renal tubular transport and catabolism of proteins and peptides.
Kidney International, vol. 16, 271-278 (1979).
- 10 CHRISTENSEN, E. et al: Intralysosomal digestion of lysozyme in renal proximal tubule cells.
Kidney International, vol. 6, 396-407 (1974).

- 11 COJOCEL, C., N. Doxin, K. Maita, S.D. Sleight, J.B. Hook:
Effects of aminoglycosides on glomerular permeability, tubular reabsorption and intracellular catabolism of the cationic low-molecular-weight protein lysozyme.
Tox. Pharmacol. 68, 96-109 (1983).
- 12 COJOCEL, C. et al: Inhibition of Renal Accumulation of lysozyme(basic Low Molekular Weight Protein) by Basic Proteins and other Basic Substance.
Pflügers Arch. 390, 211-215 (1981).
- 13 DARWIN, J., D. Prockop et al: A study of urinary and serum Lysozyme in Patients with Renal Disease.
The New England Journal, vol. 270 (no. 6), 269-271 (1964).
- 14 EVAN, A.P., W.G. Dail: The Effects of Sodium Chromate on the Proximal Tubulus of the Rat Kidney.
Laboratory Investigation, vol. 30 (no.6), 704 (1974).
- 15 FINK, M.E., S.C. Finch: Serum muramidase and granulocytic turnover.
Proc. Soc. exp. Biol., 127, 365 (1968).
- 16 FLEMING, A., V.D. Allison: Observations on a bacteriolytic substance ('lysozyme') found in secretions and tissues.
Brit. Journal exp. Path. 13, 252 (1922).
- 17 FLYNN, F.V., H.S. Platt: The origin of the proteins excreted in tubular proteinurie.
Clin. Chim. Acta 21, 377-399 (1968).
- 18 FREEMAN-NARROD, M., K. Jung et al: The Effect of High-Dose Methotrexate on Renal Tubulas as indicated by Urinary Lysozyme Concentration.
Cancer 50, 2775-2779 (1982).
- 19 GIARDINA, B., M. Marellò: Il Rene da Shock'-Ruolo della Coagulazione intravascolare disseminata - Possibilità di Terapata con "Trasylol".
Boll. Anest.-Rianim. Piemontesi 1 (no. 5/6), 54-57 (1975).

- 20 GIBEY, R., J. Dupond, D. Abler: Predicative value of urinary NAG, AAP and β_2 -microglobulin in evaluating nephrotoxicity of gentamicin.
Clin. Chim. Acta 116, 25-34 (1981).
- 21 GLYNN, A.A.: Lysozyme. Antigen, enzyme and antibacterial agent.
Sci. Basis Med. Ann. Rev., 31 (1968).
- 22 HABERMANN, E. et al: Das Verhalten des Trasylols im Organismus als Modell für die Pharmakokinetik basischer Polypeptide.
Med. Welt 24 (no. 29/30), 1163-1167 (1973).
- 23 HANKIEWICZ, Jan, E. Swierczek: Lysozyme in Human Body Fluids.
Clin. Chim. Acta 57, 205-209 (1974).
- 24 HANSEN, N.E.: The relationship between the turnover rate of neutrophilic granulocytes and plasma lysozyme levels.
Brit. Journal Haematol. 25, 771-782 (1973).
- 25 HARRISON, J.F., G.S. Lunt, P. Scott, I.D. Blainey: Urinary lysozyme, ribonuclease and low molecular weight protein in renal disease.
Lancet 1, 371 (1968).
- 26 HARRISON, J.F., R.W. Parker and K.L. de Silva: Lysozymurie and acute disorder of renal function.
Journal clin. Path 26, 278-284 (1973).
- 27 HARRISON, J.F., B.E. Wortham: Low molecular weight urine protein investigated by gel filtration.
Clin. Chim. Acta 14, 679 (1966).
- 28 HAYSLETT, J.P., E.P. Perillie, S.C. Finch: Urinary Muremidase and Renal Disease.
New England Journal Med. 279, 506-512 (1968).
- 29 HEINEMANN, H.: Proteinurie.
The Americ. Journal Med., vol. 56, 71 (1974).
- 30 HEY, D., P. Langer: Wirkungen und Nebenwirkungen beim Einsatz von Heparin, Plasmin, Epsilon-Aminocapronsäure und Trasylol im Verbrühungsschock.
Neue Aspekte der Trasylol-Therapie, vol. 5, 277-290 (1972).

- 31 JOHANSSON, B.G., U. Ranskov: The serum level and urinary excretion of α_2 -microglobulin, β_2 -microglobulin and lysozyme in renal disease. Scand. Journal Urol. Nephrol. 6, 249-256 (1972).
- 32 JUST, M., E. Habermann: The Renal Handling of Polybasic Drugs I. Arch. Pharmacol. 300, 57-66 (1977).
- 33 JUST, M., E. Habermann: The Renal Handling of Polybasic Drugs II. Arch. Pharmacol. 300, 67-76 (1977).
- 34 KANAI, M., A. Raz, D.S. Goodman: Retinol-binding protein. The transport protein for vitamin A in human plasma. Journal Clin. Invest. 47, 2025-2044 (1968).
- 35 KASSELL, B., M. Laskowski: The Basic Trypsin Inhibitor of Bovine Pancreas. Biochem. biophys. Res. Commun. 20, 463-468 (1965).
- 36 LEDDEROSE, G.: Serum und Urin-lysozym (Muramidase) bei chronisch myeloischen Leukämien. (1976) (Diss. masch. Tübingen).
- 37 LEDDEROSE, G., E. Hiller and W. Wilmanns: Lysozymurie in a case of Prostatic Cancer. Low-Molecular Weight Proteinuria caused by Aprotinin in a Non-Hematologie Malignancy. Blut 49, 229 (1984).
- 38 LITWACK, G.: Photometrie determination of lysozyme activity. Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 89, 401-403 (1955).
- 39 LUFT, F.C., S.A. Kleit: Renal parenchymal accumulation of aminoglykoside antibiotics in rats. Journal Infect. Dis. 130, 656-659 (1974).
- 40 MAACK, T: Renal handling of low molecular weight proteins. Am. Journal med. 58, 57-64 (1975).
- 41 MAACK, T., D.D.S. Mackensie, W.B. Kinter: Intracellular pathways of renal absorption of lysozyme. Am. Journal Physiol. 221, 1609-1616 (1971).

- 42 MAACK, T., D. Sigulem: Renal handling of Lysozyme.
In: Lysozyme (edit. E.F. Osserman),
Acad. Press 321-333 (1974).
- 43 MANCINI, G., A.O. Carbonara, J.F. Heremans: Immunochemical
quantitation of antigens by single radial
immunodiffusion.
Immunochemistry 2, 235-254 (1965).
- 44 MASON, D.Y., C.R. Taylor: The distribution of muramidase
(lysozyme) in human tissue.
Journal clin. Path. 28, 124-132 (1975).
- 45 MELANDER, B. et al: Biochemistry and toxicology of Amikapron.
The antifibrinolytically active isomer of
AMCHA (A comparative study with E-Aminocaproic
acid).
Acta pharmacol. (Kbh) 22, 340-352 (1965).
- 46 MORGAN, D.B.: Assessment of renal tubular function and
damage and their clinical significance.
Ann. Clin. Biochem. 19, 307-313 (1982).
- 47 OSSERMAN, E.F., D.P. Laslor: Serum and urinary lysozyme
(muramidase) in monocytic and monomyelocytic
leukemia.
Journal exp. Med. 124, 921-951 (1966).
- 48 OTTOSEN, P.D. et al: Renal handling of lysozyme in the rat
Kidney International, vol. 15, 246-254 (1979).
- 49 PERILLIE, P.E. and S.C. Finch: Muramidase studies in Phila-
delphia chromosome positive and chromosome
negative chronic granulocytic leukemia.
New England Journal Med. 283, 456-459 (1970).
- 50 PERILLIE, P.E., S.S. Kaplan and E. Leftkowitz: Studies of
muramidase (lysozyme) in leukemia.
Jama 203, 317-322 (1968).
- 51 PETERSON, P.A., P. Evrin, I. Berggard: Differentiation of
glomerular, tubular and normal proteinurie.
Determinations of urinary excretion of β_2 -micro-
globulin, albumin and total protein.
Journal Clin. Invest. 48, 1189 (1969).
- 52 PRUZANSKI, W., D.R. Wilson: Renal handling of endogenous
lysozyme in man.
Journal lab. Clin. Med. 90, 61-67 (1977).

- 53 REINHOLD, G.J., G.R. Kingsley, T.E. Weichselbaum: Total Protein, Albumin, Globulin. In: Standard Methods of Clinical Chemistry, vol. I. Acad. Press 87-97 (1953).
- 54 ROSENBAUM, R.W. and G.H. Mayor: B₂-MG. Metabolism and clinical usefulness. Int. Journal artificial Organs 4, 5-9 (1981).
- 55 SCHENTAG, J.J. et al: Early Detection of Aminoglycoside Nephrotoxicity with urinary Beta-2-Microglobulin. Journal Med., vol. 9 (no.3), 201-210 (1978).
- 56 STRAO, W.E. and J.B. Hook, Enzyms of renal origin in urine as indicators of nephrotoxicity. Toxicol. Appl. Pharmacol. 39, 423-434 (1977).
- 57 SUSSMAN, M., A.W. Asscher, J.A.S. Jenkins: The intrarenal distribution of lysozyme (muramidase) Invest. Urol. 6, 148-153 (1968).
- 58 TISCHENDORF, F.W.: Klinische Bedeutung der Lysozym-Bestimmung. Laboratoriumsblätter für die medizinische Diagnostik (Behringwerke AG., ed.) 2, 70 (1975).
- 59 TISCHENDORF, F.W.: Lysozym in nephrologie und Hämatologie. Laboratoriumsblätter für die medizinische Diagnostik (Behringwerke AG., ed.) 25, 70-83 (1975).
- 60 TISCHENDORF, F.W. and H.R. Böhm: Cationic proteins of leukocyte lysosomes in human acute and chronic leukaemia. Diagnostic and prognostic implications. In: Molecular Base of Malignancy. New Clinical and Therapeutic Evidences (ed. by E. Deutsch, K. Moser, A. Rainer and A. Stacker; Stuttgart 1976).
- 61 TISCHENDORF, F.W., G. Ledderose, D. Müller, D. Orywall und W. Wilmanns: Chronische Myelosen mit massiver Lysozymurie unter Milzbestrahlung. Klin. Wschr. 50, 250-257 (1972).
- 62 TISCHENDORF, F.W., G. Ledderose, W. Wilmanns, D. Mueller: Heavy lysozymurie after X-irradiation of the spleen in human chronic myelocytic leukemia. Nature <London>, 235, 274 (1972).

- 63 TISCHENDORF, F.W., E.F. Osserman: Tryptic peptides of human lysozyme from urine of monocytic leukemics (abstract). Fed. Proc. 26, 845 (1967).
- 64 TISCHENDORF, F.W., M.M. Tischendorf, G. Ledderose: Lysozym-Nachweis im Serum und Urin zur Diagnostik und Verlaufskontrolle von Hämoblastosen. In: Serumproteine (ed. A. Engelhardt, H. Lommel; Weinheim 1974).
- 65 TÖRÖK, P.: Die Lokalisation eines Proteinasen-Inhibitors in der Niere der Maus durch Immunfluoreszenz. Arzneimit.-Forschung (Drug Res.) 22, 1534-1598 (1972).
- 66 TULKENS, P., A. Tronet: The uptake and intracellular accumulation of aminoglycoside antibiotics in lysosomes of cultured rat fibroblasts. Biochem. pharmacol. 27, 415-424 (1978).
- 67 WARD, M., W.D. Mitchell and M. Eastwood: Complex nature of serum lysozyme activity. Coincidence of thermostability in inflammatory bowel disease. Journal Clin. Path. 31, 39-43 (1978).
- 68 WELLWOOD, J.M., D. Lovell, A.E. Thompson, J.R. Tighe: Renal damage caused by gentamicin. A study of the effects on renal morphology and urinary enzyme excretion. Journal Path. 118, 171-182 (1976).
- 69 WIBELL, L.: The serum level and urinary excretion of B₂-MG in health and renal disease. Path. Biol. 26, 295-301 (1978).

Herrn Dr. Georg Ledderose danke ich herzlich für die freundliche Überlassung des Themas sowie für seine fortwährenden Anregungen und Hinweise und seine tatkräftige Unterstützung.

Frau Koch, seiner Mitarbeiterin, möchte ich an dieser Stelle ebenfalls für die technische Hilfe bei der Ausführung der Untersuchungen danken.

München, im Mai 1985

LEBENS LAUF

Am 21. November 1956 wurde ich, Rainer Wilhelm Kurz in Lindau/Bodensee geboren. Nach Besuch der Volksschule wurde ich 1967 in den mathematisch-naturwissenschaftlichen Zweig des Bodensee-Gymnasiums in Lindau aufgenommen, wo ich im Mai 1976 die Reifeprüfung ablegte.

Im Wintersemester 1976/77 begann ich an der Ludwig-Maximilians-Universität in München das Studium der Chemie und bestand dort im Wintersemester 1978/79 das Vor-diplom in diesem Fach.

Im Sommersemester 1979 begann ich mein Studium der Humanmedizin und bestand im Wintersemester 1984/85 an der Universität München den Dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.

München, im Mai 1985

